DOI:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.018

· 综述 ·

遗传性血液疾病基因治疗的新进展:从血友病到血红蛋白病的突破

徐秉岐[1,2],张磊[1,2*]

[1]中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,细胞生态海河实验室,天津市血液病基因治疗研究重点实验室,中国医学科学院血液病基因治疗重点实验室,天津 300020

[2]天津医学健康研究院,天津 301600

摘要: 遗传性血液疾病如血友病、镰状细胞病、地中海贫血,给全球带来沉重的健康与社会负担,传统治疗存在终身依赖、费用高昂等局限。基因治疗的兴起推动该领域治疗范式发生根本性变革,成为治愈此类疾病的关键方向。(1)在载体系统方面:慢病毒载体通过优化启动子提升了安全性与表达效率,腺相关病毒(AAV)载体凭借低免疫原性和组织靶向性在血友病治疗中占据主导,新型载体通过启动子选择和整合控制进一步降低风险。基因编辑技术实现了重大突破:规律成簇间隔短回文重复序列(CRISPR)-CRISPR 相关蛋白 9(Cas9)疗法获美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于镰状细胞贫血,碱基编辑技术可精准修正致病点突变,表观遗传编辑则通过激活胎儿血红蛋白提供新策略。(2)临床试验成果显著:多款血友病基因治疗产品获批,β-地中海贫血患者经治疗后可脱离输血依赖,镰状细胞病基因编辑疗法有效减少了血管闭塞危象。然而,该领域仍面临治疗成本高、儿童患者数据匮乏、疗效评估标准不统一等问题,插入突变、免疫原性和脱靶效应等安全性挑战亦需持续应对。未来,通用型治疗平台构建、体内直接编辑技术突破及联合治疗策略探索将成为核心发展方向,推动基因治疗向个体化精准医疗迈进,为遗传性血液疾病患者带来更可及、更安全的根治希望。

关键词: 遗传性血液病;基因治疗;病毒载体;基因编辑;精准医疗

中图分类号: R552

Advancement of gene therapy for hereditary blood disorders: breakthroughs from hemophilia to hemoglobinopathies

XU Bingqi[1,2], ZHANG Lei[1,2*]

[1]State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

[2]Tianjin Institutes of Health Science, Tianjin 300020, China

Abstract: Hereditary blood disorders, such as hemophilia, sickle cell disease, and thalassemia, impose a heavy global health and social burden. Traditional treatments are limited by lifelong dependence and high costs. The rise of gene therapy has driven a fundamental

基金项目: 国家自然科学基金项目(82430010);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2024-I2M-ZH-016)

* 通信作者

利益冲突: 作者均声明无利益冲突

伦理批件: 不需要

知情同意: 不需要

引用本文: 徐秉岐, 张磊. 遗传性血液疾病基因治疗的新进展:从血友病到血红蛋白病的突破[J]. 再生医学研究, 2026,1(1): 57-71. doi: 10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.018.

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82430010); CAMS Innovation Fund for Medical Sciences (2024-I2M-ZH-016)

* Corresponding author

Conflicts of interest: Authors all declare no conflicts of interest.

Ethical approval: not required.

Informed consent: not required.

Cite this article: Xu BQ, Zhang L. Advancement of gene therapy for hereditary blood disorders: breakthroughs from hemophilia to hemoglobinopathies[J]. Zaisheng Yixue Yanjiu, 2026,1(1): 57-71. doi: 10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.018.

transformation in the treatment paradigm of this field, becoming a key direction for curing such diseases. (1) In terms of vector systems: lentiviral vectors have improved safety and expression efficiency through promoter optimization. Adeno-associated virus (AAV) vectors dominate hemophilia treatment due to their low immunogenicity and tissue targeting. Novel vectors further reduce risks through promoter selection and integration control. Gene editing technology has achieved significant breakthroughs: clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-CRISPR-associated protein 9 (Cas9) therapy has been approved by the Food and Drug Administration (FDA) for sickle cell anemia, base editing can accurately correct pathogenic point mutations, and epigenetic editing provides a new strategy by activating fetal hemoglobin. (2) Clinical trial results are remarkable: several hemophilia gene therapy products have been approved, β-thalassemia patients can achieve transfusion independence after treatment, and gene editing therapy for sickle cell disease effectively reduces vaso-occlusive crises. However, the field still faces issues such as high treatment costs, lack of data on pediatric patients, and inconsistent efficacy evaluation standards. Safety challenges including insertional mutagenesis, immunogenicity, and off-target effects also require continuous addressing. In the future, the construction of universal treatment platforms, breakthroughs in *in vivo* direct editing technology, and exploration of combined therapeutic strategies will be the core development directions, promoting gene therapy towards personalized precision medicine and bringing more accessible and safer curative hope to patients with hereditary blood disorders.

Key words: Hereditary blood disorders; Gene therapy; Viral vector; Gene editing; Precision medicine

遗传性血液疾病作为一类严重的单基因遗传病，长期以来给全球公共卫生系统带来了沉重的负担。传统疗法如定期输血和凝血因子替代治疗，虽能暂时缓解症状，但难以摆脱终身用药的局限与并发症困扰。近年来，基因治疗凭借其“一次给药，长期受益”，甚至“临床治愈”的潜力，已成为血液学领域最具变革性的治疗范式。从腺相关病毒（adeno-associated virus，AAV）载体在血友病治疗中的稳步推广，到成簇规律间隔短回文重复序列（clustered regularly interspaced short palindromic repeats，CRISPR）-CRISPR 相关蛋白 9（CRISPR-associated protein 9，Cas9）基因编辑技术在血红蛋白病中的历史性准入，血液病基因治疗正处于从前沿实验室研究向大规模临床转化的飞跃阶段。本文旨在系统性综述遗传性血液疾病基因治疗在载体设计、编辑技术应用及临床试验方面的新进展，深入探讨现存的安全性挑战与伦理争议，并对未来个体化精准医疗背景下的血液病治理蓝图进行展望，以期为相关领域的研究者与临床医生提供前瞻性的参考。

1 研究价值定位

1.1 遗传性血液疾病的全球疾病负担

遗传性血液疾病已成为全球范围内的重大健康负担，血友病、镰状细胞病（sickle cell disease，SCD）与地中海贫血是其中最具代表性的类型。血友病作为一种 X 染色体连锁的遗传性出血性疾病，发病核心机制在于合成凝血因子Ⅷ（factor Ⅷ，*F*Ⅷ）或凝血因子Ⅸ（factor Ⅸ，*F*Ⅸ）的基因存在缺陷，导致相关凝血因子合成不足或功能异常[1-2]。血红蛋白病是一组因血红蛋白分子结构异常或合成障碍引发的遗传性血液疾病，SCD 与地中海贫血均属于此类疾病的核心亚型。SCD 由单一碱基突变导致血红蛋白肽链结构异常，全球患病群体数量高达数百万人[3]；地中海贫血的发病机制为珠蛋白肽链合成减少或完全缺失，导致小细胞低色素性贫血、铁过载等一系列临床并发症。这些疾病不仅导致患者生活质量严重下降，还带来巨大的医疗支出和社会成本[4]。值得注意的是，这些遗传性血液疾病在发展中国家尤为常见，由于医疗资源有限，患者往往难以获得充分的治疗[5]。

1.2 传统治疗手段的局限性

当前针对遗传性血液疾病的标准治疗方案存在诸多限制。以血友病为例，其主流疗法——凝血因子替代治疗，要求患者接受终身性的、频繁（每周 2～3 次）的静脉输注。这种治疗模式不仅程序繁琐，更对患者的长期生活质量与治疗依从性构成了持续挑战[6]。尽管延长半衰期的因子制剂有所发展，但治疗费用高昂且无法根治疾病[1,7]。血红蛋白病的治疗同样面临严峻挑战：输血依赖型地中海贫血（transfusion dependent thalassemia，TDT）患者需

终身接受输血及铁螯合治疗，而 SCD 的疼痛危象疗效亦常受限，均为患者带来沉重的治疗负担[8-9]。更严峻的是，约 30% 的重度血友病患者会产生抑制性抗体，这使其对传统的凝血因子替代治疗无效[10]。上述局限性进一步凸显了开发新型治疗方法的紧迫性[11]。

1.3　基因治疗在血液疾病中的突破性意义

基因治疗的出现，正推动遗传性血液疾病的治疗范式发生根本性转型。其中，基于 AAV 载体的肝脏定向基因治疗在血友病 B 领域成效卓著，仅通过单次静脉输注，便能诱导机体持续数年生成治疗水平的凝血因子，颠覆了传统终身、频繁替代的治疗模式[11-12]。2022 年，欧盟批准了全球首个血友病基因治疗产品，代表该治疗领域的一个重要里程碑[2,13]。与此同时，在血红蛋白病研究方向，CRISPR-Cas9 等基因编辑技术的进步，实现了对造血干细胞致病突变的高精度修正[3,9]。临床实践中，基于慢病毒载体的基因疗法已在 β-地中海贫血患者中取得显著成效，成功帮助部分患者脱离输血依赖[9]。这些重大进展不仅推动“一次性治愈”成为可能[14]，也为更多单基因遗传病的治疗策略提供了可借鉴的路径[15]。随着 B 细胞淋巴瘤因子 11A（B-cell lymphoma/leukemia 11A，BCL11A）等红细胞关键调控因子作用的明确，β-血红蛋白病的治疗靶点体系进一步丰富[16]，充分显示出基因疗法在遗传性血液疾病领域的巨大潜力与广阔前景。

2　靶向疾病的分子病理学特征

2.1　血友病的凝血因子基因缺陷机制

血友病是一种 X 连锁隐性遗传性出血性疾病，其分子病理学基础主要为 *FⅧ* 或 *FⅨ* 基因的功能缺陷性突变，分别引起 FⅧ 或 FⅨ 的合成障碍或功能丧失[17]。疾病的临床严重程度直接取决于致病突变所导致的残余凝血因子活性水平[18]。这些突变涵盖错义、无义、剪接位点等多种类型，其中 *FⅨ* 基因的外显子突变已被证实可通过干扰剪接过程而影响重组因子FⅨ的生物活性[19-20]。在临床表现上，血友病 A 患者常表现为特征性的自发性关节出血，反复出血可导致关节结构破坏、畸形及功能丧失，严重损害患者的生活质量[17]。此外，研究[21]显示FⅧ缺乏本身还可能直接参与骨质疏松、炎症反应及血管脆性增加等并发症的发生。

2.2　血红蛋白病的血红蛋白合成异常

血红蛋白病是一类由 β-珠蛋白基因突变或缺失引起的遗传性血液疾病，主要包括 β-地中海贫血和 SCD[22]。在 SCD 中，β-珠蛋白基因的特定点突变导致血红蛋白 S（hemoglobin S，HbS）形成，进而引发红细胞发生镰状变形及血管闭塞危象[23]。此类异常血红蛋白不仅造成红细胞形态改变，还会导致慢性溶血性贫血及多系统终末器官损伤[22]。而在 β-地中海贫血中，*KLF1* 基因的杂合突变已被证实与严重的新生儿溶血性贫血相关，其临床特征包括红细胞形态异常、有核红细胞显著增多及高胆红素血症[24]。近年来研究[16]进一步揭示，BCL11A 等红细胞发育关键调控因子在胎儿血红蛋白（fetal hemoglobin，HbF）表达调控中发挥核心作用，为该类疾病的靶向治疗提供了新的分子基础。

2.3　共同病理特征：无效造血与器官损伤

在遗传性血液疾病中，无效造血是普遍存在的核心病理机制之一。该过程主要由造血干细胞和祖细胞中线粒体过度碎片化所驱动[25-26]。在骨髓增生异常综合征模型中，无效造血可进一步导致细胞发育异常及骨髓衰竭[26]。研究[27-28]表明，骨髓增生异常综合征（myelodysplastic syndrome，MDS）细胞通过分泌细胞外囊泡对正常造血功能产生可逆性抑制。在血红蛋白病中，无效造血主要表现为红细胞生成障碍与慢性溶血，并最终引发多系统终末器官损伤[9, 22]。此外，该类疾病共享若干关键分子特征，例如 KLF1 转录因子突变可通过影响红系分化导致不同程度的贫血表现[29]。在 SCD 的复杂病理生理过程中，血红蛋白聚合、HbF 表达调控及血红蛋白转换机制亦发挥关键作用[30]。

3　基因治疗载体系统的优化进展

3.1　慢病毒载体的安全性与效率提升

慢病毒载体在遗传性血液疾病的基因治疗中展现出独特优势，尤其在造血干细胞的体外遗传修饰方面已成为最成熟的技术平台之一。在近期针对

重型血友病 A 的临床试验中，采用慢病毒载体转导患者自体 $CD34^+$ 造血干细胞，成功实现了持久且稳定的内源性 FⅧ表达，定植后患者外周血中的载体拷贝数与 FⅧ活性水平呈显著的正向线性相关[31]。然而，慢病毒载体系统的底层免疫原性始终是其实施体内递送的一把双刃剑。研究[32]表明，当慢病毒载体直接在体内环境暴露时，其极易高效转导树突状细胞，进而在抗原递呈过程中诱发强烈、高比例的多功能抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞反应，并形成中央记忆 T 细胞表型。尽管这种强效的免疫激活在疫苗开发领域具有重要价值，但在血友病等单基因缺陷疾病的补充治疗中，却是导致转基因表达细胞被免疫清除、引发疗效衰竭的致命障碍。因此，新一代慢病毒载体的前沿优化重点转向了免疫规避设计。例如，通过搭载组织特异性启动子（如仅在特定髓系/淋巴系中受限表达）以及剔除长末端重复序列中的近端增强子元件，不仅显著削弱了因随机整合诱发原癌基因激活的生物安全风险，更从源头上限制了载体在非靶标抗原递呈细胞中的非预期翻译，旨在诱导机体产生免疫耐受而非免疫排斥，为开发更为安全的体内基因治疗策略提供了关键的分子基础[33]。

3.2 AAV 载体在血友病治疗中的独特优势

AAV 载体已成为血友病基因治疗领域的主导技术平台，其核心优势在于能够介导长期且稳定的凝血因子表达。多项临床试验结果表明，基于 AAV 的基因治疗可显著降低大多数重型血友病患者的年出血率，并减少其对预防性治疗的依赖[11]。在血友病 B 的治疗中，搭载高活性人凝血因子Ⅸ变体（FⅨ-R338L/ FⅨ-Padua）的 AAV 载体 Fidanacogene Elaparvovec，已被证实可使患者体内实现持续的治疗水平 FⅨ表达[34]。值得注意的是，AAV 载体在肝定向基因递送方面表现突出，例如，在血友病 A 犬模型中，经单次门静脉输注 B 结构域缺失的犬 FⅧ AAV载体后，可持续表达凝血因子超过 10 年，展现出卓越的长期疗效[35]。与慢病毒载体相比，AAV 载体具有更低的免疫原性及更高的组织靶向特异性，其中 AAV6 血清型在血友病 A 的临床前及临床研究中均显示出良好的治疗潜力[36]。

3.3 新型载体设计：启动子选择与基因组整合控制

在基因治疗载体的开发中，启动子的合理选用与基因组整合行为的有效控制是两大核心优化方向。研究[37-38]表明，采用肝特异性启动子可显著提高 AAV 载体在血友病治疗中的转基因表达效率，并有效限制其在非靶组织中的表达，从而降低脱靶风险。而在慢病毒载体体系中，β2-微球蛋白启动子的使用不仅引导转基因在免疫细胞中优势表达，也因其所含增强子元件较少，有助于降低因随机整合所引起的基因组扰动风险[31]。就整合特性而言，AAV 载体进入细胞后主要以外染色体附加体形式持续存在，其长期表达水平与此类结构的稳定性密切相关；尽管随机整合事件仍可被检测，但发生频率显著较低[39]。在血友病 B 的基因治疗中，新型高效 FⅨ变体 CB 2679d-GT 的成功设计，使得在较低载体剂量下实现治疗效果成为可能，进一步拓宽了治疗窗口[40]。此外，对 AAV-HBV1.04 病毒载体中共价闭合环状 DNA 形成机制的研究，也为优化载体基因组的核内存续策略提供了新的思路[41]。

4 基因编辑技术的临床转化

4.1 CRISPR-Cas9 在 β-血红蛋白病中的靶向修正

CRISPR-Cas9 系统的出现为基因工程领域带来了突破性进展，显著拓展了遗传性疾病治疗的策略边界。该技术源于微生物适应性免疫机制，以其精确的靶向能力、高度可编程性及广泛适用性成为基因编辑的核心工具[42]。在 β-血红蛋白病的治疗探索中，将 CRISPR-Cas9 介导的 β-珠蛋白基因校正与自体造血干细胞移植相结合，已形成一种新的治疗范式[43]。2023 年，基于该技术路线开发的 CASGEVY™疗法获美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration，FDA）批准用于镰状细胞贫血，成为 CRISPR 基因编辑临床应用的重要里程碑[42]。研究[43]显示，通过对患者来源的造血干细胞中 *HBB* 基因突变进行靶向修复，可在体外及动物模型中有效恢复功能性血红蛋白表达，展现良好的治疗潜力。值得关注的是，Hardouin 等团队[44]通过多重 CRISPR-Cas9 编辑策略进一步优化了 β-血红

蛋白病的基因治疗方案，并在提升编辑效率的同时，对预处理方案进行系统改进，从而降低了治疗相关风险。

4.2　碱基编辑技术治疗镰状细胞贫血的突破

碱基编辑技术的出现为镰状细胞贫血的根治性治疗开辟了新路径。该疾病源于 β-珠蛋白基因第 20 位核苷酸 A>T 的点突变，因此直接修正该致病碱基被视为理想策略[45]。与传统 CRISPR-Cas9 系统依赖 DNA 双链断裂的修复机制不同，碱基编辑器可在不断裂 DNA 双链的前提下实现精准的碱基转换，显著降低了染色体缺失、易位等基因组不稳定性风险[46]。研究团队[47]已建立一套高效的无病毒载体递送体系，通过电穿孔将碱基编辑器直接导入 SCD 患者来源的 $CD34^+$ 造血干细胞，并证实可高效修复 *HBB* 基因突变。体外实验[48]结果显示，经编辑后的红细胞不仅镰状变形比例显著下降，其在低氧环境下的流变学特性也得到明显改善。这些系统性研究为碱基编辑技术应用于血红蛋白病的临床转化提供了有力支持[49]。

4.3　表观遗传编辑激活 HbF 的策略

通过表观遗传编辑重新激活 HbF 表达是治疗血红蛋白病的另一重要策略。研究[46]表明，靶向 γ-珠蛋白启动子中淋巴瘤相关因子抑制蛋白的结合位点，可以有效地解除对 HbF 表达的抑制。CRISPR-Cas9系统被用于破坏 BCL11A 在+58-kb 增强子区域的结合位点，从而下调这一关键的 HbF 抑制因子[47]。近期研究[48]还开发了一种靶向编辑 γ-珠蛋白基因启动子的方法，通过破坏这些启动子区域显著提高了红细胞后代中 HbF 的表达水平。在β-地中海贫血患者的红细胞中，这种基因编辑方法改善了无效造血并显著增加了每个细胞的血红蛋白含量[43-44]。这些表观遗传编辑策略为血红蛋白病的治疗提供了不依赖基因修正的替代方案[49]。

5　关键临床试验成果分析

5.1　血友病基因治疗的长期随访数据

血友病基因治疗走过了 30 年的临床发展历程，目前已从实验室研究稳步推进至临床应用阶段。多项具有里程碑意义的临床试验结果一致表明，基于 AAV 载体的基因治疗手段具备可靠的长期安全性与治疗效果[50]。新近发表的Ⅲ期临床研究[51]显示，通过 AAV 载体导入治疗基因后，血友病 B 患者的 FⅨ活性可在 5 年以上时间内维持在有临床意义的水平，年出血率也得到显著控制。2022 年 8 月，欧盟先后批准了两款血友病基因治疗产品——Valoctocogene Roxaparvovec（用于血友病 A）和 Etranacogene Dezaparvovec-drlb（用于血友病 B）。近年来，AAV 载体介导的基因治疗在血友病 B 领域取得了突破性进展。多项临床研究数据表明，单次静脉输注 AAV 基因治疗后，患者FⅨ活性可长期维持稳定，年出血事件显著减少。例如，一项为期 13 年的纵向随访研究[52]显示，接受 scAAV2/8-LP1-hFⅨco 基因治疗的 10 例严重血友病 B 患者，其FⅨ活性在低、中、高剂量组分别维持在 1.7、2.3 和4.8 IU/dL的稳定水平，且中位年出血频率从治疗前的 14.0 次降至 1.5 次，降幅达 9.7 倍，同时 FⅨ浓缩物使用量减少 12.4 倍。值得注意的是，7 例患者完全摆脱了预防性治疗，且未观察到迟发性安全事件，包括 FⅨ抑制剂、血栓形成或慢性肝损伤。这些结果不仅证实了 AAV 载体介导的基因转移可实现持久的转基因表达，更凸显了其从根本上改变血友病 B 治疗范式的潜力。此外，中国团队[53]开发的 AAV-FⅨ Padua（BBM-H901）在Ⅰ/Ⅱ期和Ⅲ期临床试验中同样展现出卓越疗效：26 例患者接受 5×10^{12} μg/kg 剂量治疗后，52 周内平均 FⅨ活性达 41.9 IU/dL，年出血频率降至 0.6 次，其中 80.8% 的患者实现零出血事件，且无剂量限制性毒性或 3 级药物相关不良事件发生。这些数据共同表明，通过合理设计载体剂量和表达盒，AAV 基因治疗可突破传统替代疗法的局限性，为血友病 B 患者提供“一次性治愈”的可能。在血友病 A 领域，研究者[54]开发了 AAV8-Bi8 载体，通过递送54.5 kDa的 FⅧ模拟抗体（而非传统FⅧ转基因），既解决了 AAV 包装容量限制，又实现了与野生型动物相当的止血效果。这种“抗体替代基因”策略为超大基因疾病的治疗提供了新思路。AAV 基因治疗在血友病领域已实现从概念验证到临床转化的跨越，其核心优势在于单次治疗即可获得持续多年的凝血因子表达和出血控制，显著降低治疗负担。随

着更多工程化 AAV 载体的出现和给药策略的完善，基因治疗有望成为血友病标准治疗的重要组成部分。

5.2 β-地中海贫血的慢病毒治疗案例比较

近年来，多项临床试验证实了慢病毒载体技术在治疗输血依赖型 β-地中海贫血中的显著疗效。在一项长期随访研究（LTF-303）[55]中，63 例接受 beti-cel 治疗的 TDT 患者中，90.2% 的 Ⅲ 期试验参与者实现了持续输血独立性，中位血红蛋白水平达 11.2 g/dL，且疗效可维持长达 10.1 年。值得注意的是，该疗法的成功与制造工艺优化密切相关——Ⅲ期研究中更高的载体拷贝数和 HbAT87Q 表达水平直接转化为更优的临床结局，凸显技术迭代对治疗效果的提升作用。安全性方面，慢病毒治疗表现出良好的长期耐受性。在 beti-cel 的随访中，未观察到插入性突变、复制型慢病毒或恶性肿瘤事件。但需注意，预处理化疗（如白消安）的毒性仍是重要风险因素，尤其对于肝脾肿大或器官功能受损的 TDT 患者。相比之下，新兴的基因组编辑技术（如 CRISPR-Cas9）通过靶向激活 BCL11A 增强子或直接修饰 γ-珠蛋白启动子，可在不依赖病毒载体整合的情况下诱导 HbF，理论上可能降低基因毒性风险[56]。从转化医学视角看，慢病毒治疗的局限性在于高昂的成本和复杂的制备流程。自体造血干细胞的采集、体外扩增与基因修饰需要高度专业化的良好生产规范（good manufacturing practice，GMP）设施，且个体化制备周期长达数月。相比之下，口服小分子药物如丙酮酸激酶激活剂（Mitapivat）虽仅能适度提升血红蛋白（约 1 g/dL），但其便捷性和可及性更适合资源有限地区[57]。未来研究方向可能聚焦于优化载体设计（如自失活载体降低致癌风险）、开发非清髓性预处理方案，以及探索异体通用型基因编辑疗法，以进一步拓宽适用人群。慢病毒治疗在 β-地中海贫血领域展现出变革性潜力，治疗方案的选择需综合评估患者临床特征、基因型及医疗资源可及性。随着基因编辑技术的快速发展，下一代治疗策略可能实现更精准的基因组调控，为患者提供多元化的治愈选择。

5.3 SCD 基因编辑疗法的近期报告

SCD 的基因编辑治疗在近年来取得了具有分水岭意义的实质性跨越。2023 年 12 月，美国 FDA 正式批准了全球首款基于 CRISPR-Cas9 技术的基因编辑疗法 Exagamglogene Autotemcel（Casgevy）用于治疗 12 岁及以上反复发作血管闭塞危象的重症 SCD 患者[58]。该疗法的核心机制在于通过 CRISPR 系统靶向破坏 *BCL11A* 基因的红系特异性增强子（+58-kb 区域），从而通过解除转录阻遏由源头重新激活 HbF 的大规模合成[59]。在关键的临床试验追踪报告中，接受 Exa-cel 改组后的自体造血干细胞回输移植后，约 96.7% 的重度受试者在长达 24 个月的随访期内实现了“无重症血管闭塞事件”。生化检测显示，其体内的 HbF 表达量稳定维持在总血红蛋白的 30% 以上（平均达 40%），且呈全细胞型分布，这一比例远超预防镰变所需的 20% 保护阈值[60]。然而，相较于 β-地中海贫血，SCD 的基因治疗评估维度更为复杂：患者即便实现了血液学层面的“生化缓解”，仍需面对长期慢性溶血累积的系统性血管炎性损伤。随访数据[61]显示，尽管急性疼痛危机得到遏制，但部分成年病患已发生的终末器官受损（如肾功能衰竭、肺动脉高压）仍具有不可逆性，这提示基因治疗介入的时机——即在多器官受累前进行早期干预，对于提升患者长期获益具有关键意义。当前，学术界正进一步探索该策略在镰状细胞-β 地中海贫血复合型及具有复杂单倍型背景患者中的普适性疗效，旨在建立更为多元化的精准干预方案。

6 治疗策略的异同比较

6.1 血友病：蛋白替代与基因补充的平衡

血友病的基因治疗策略核心在于凝血因子的外源性补充与内源性基因替代之间的平衡。目前已获批准的两款基因治疗产品分别为用于血友病 A 的 Valoctocogene Roxaparvovec 及用于血友病 B 的 Etranacogene Dezaparvovec-drlb[12]。这些疗法采用 AAV 载体，通过单次静脉输注实现肝脏定向的基因递送，从而显著提升患者体内凝血因子的活性水平[52]。相较于传统的蛋白替代治疗，基因治疗能够提供更为持久的治疗效果，有效规避频繁静脉输注所带来的治疗负担[62]。然而，血友病 A 的基因治疗仍面临疗效长

期持久性不确定的问题，且当前临床试验主要局限于健康成年患者群体[12]。值得注意的是，血友病 B 在基因治疗方面取得的进展更为显著，这主要归功于高活性 FⅨ-Padua 变体的成功应用[63]。

6.2　血红蛋白病：造血干细胞改造的共性需求

血红蛋白病的基因治疗策略主要建立在针对造血干细胞的遗传修饰基础上。与血友病主要针对肝细胞进行基因补充不同，血红蛋白病的病理根源在于红细胞谱系的功能异常，因此需通过对造血系统进行遗传干预以实现根本性纠正[64]。近年来，基于慢病毒载体的造血干细胞基因治疗已在 β-地中海贫血患者中展现出持久的治疗效果，部分患者可实现长期脱离输血依赖[57]。此外，CRISPR-Cas9 基因编辑技术在该领域表现出显著潜力，其作用机制包括直接修复 *HBB* 基因突变或通过靶向 *BCL11A* 基因增强子区域以重新激活 HbF 的表达[43,65]。值得关注的是，镰状细胞贫血的治疗同样遵循基于造血干细胞改造的策略，但由于其病理机制涉及血红蛋白聚合与红细胞镰变，通常对基因校正效率提出更高要求[59]。总体而言，上述治疗手段均以自体造血干细胞移植为核心技术路径，反映出血红蛋白病在治疗层面对于造血系统进行靶向改造的共通性逻辑。

6.3　剂量效应与疗效持久性的差异

在不同遗传性血液疾病的基因治疗中，剂量效应与疗效持久性呈现出显著差异。对于血友病 B，研究[12,52]证实其可在较低载体剂量下实现长期（超过 5 年）的 *F*Ⅸ 稳定表达；相比之下，血友病 A 的治疗通常需要更高的载体剂量方能达到治疗阈值。在血红蛋白病领域，治疗效果则直接取决于造血干细胞内转基因的拷贝数或特定基因位点的编辑效率[66]。从疗效持久性来看，血友病的基因补充疗法可能因载体 DNA 的逐渐丢失而导致转基因表达水平随时间的推移而下降[12]；反之，基于造血干细胞改造的血红蛋白病疗法，由于改造后的干细胞及其分化子代可在患者体内长期植活，因此有望实现一次性的终身治愈[67]。这些差异本质上源于两类疾病的治疗策略所靶向的细胞类型不同（分别为终末分化的肝细胞与具有自我更新能力的造血干细胞），以及其内在的病理生理机制迥异[68]。

7　安全性挑战与解决方案

7.1　插入突变风险的管控策略

病毒载体系统在基因治疗中的应用面临插入突变这一潜在风险，已成为其迈向临床转化的关键安全性瓶颈。整合型载体（如慢病毒载体）可通过随机整合至宿主基因组，进而激活原癌基因或破坏抑癌基因功能，最终诱发克隆性造血异常乃至血液系统肿瘤[69]。为有效控制该风险，目前已形成多种针对性策略：采用自灭活载体构型以削弱长末端重复序列的转录激活能力[70]；发展靶向“安全港”基因位点的精准整合技术[71]；以及运用脂质纳米颗粒等非病毒递送系统，从根本上规避基因组整合过程[72]。需要指出的是，重组 AAV 载体虽以外染色体附加体形式为主要存在方式，但在基因组高转录活性区域仍存在低频整合现象，提示其载体设计仍具有进一步优化的空间[73]。

7.2　免疫原性反应的预防措施

免疫原性反应构成基因治疗发展中的另一关键挑战，主要涉及针对载体衣壳蛋白的预先存在性或治疗诱发的免疫应答，以及对新表达转基因产物的免疫识别与排斥。临床观察[74]表明，部分病毒载体在人体中所引发的免疫反应程度与特征，并未在临床前模型中得以充分预测。为降低免疫原性，目前已发展出多种应对策略，包括采用人源化或密码子优化的转基因序列以减少异源蛋白的免疫识别[75]；开发能够模拟天然翻译后修饰的 mRNA 递送系统，从而增强转基因产物的生物相容性并降低其免疫原性[76]；以及通过短期免疫抑制干预，在治疗初期建立对转基因产物的免疫耐受[77]。此外，在嵌合抗原受体 T（chimeric antigen receptor T，CAR-T）细胞等免疫细胞治疗领域，新型纳米针电穿孔技术的应用有效规避了传统病毒转导所带来的免疫原性问题，同时实现了较高的基因转染效率[78]。

7.3　脱靶效应的检测与降低技术

基因组编辑工具的脱靶效应是制约基因治疗安全性的关键因素之一。尽管 CRISPR-Cas9 系统具备高效编辑能力，其潜在的脱靶风险仍不容忽视。近年来，为提升其特异性，多种优化策略被相继开

发。例如,采用双切口酶系统可在 DNA 链上产生交错型双链断裂,从而显著降低非特异性切割事件的发生[79];高保真 Cas9 变体(如 MiniCasUltra)的应用进一步提升了系统的精准性,其靶向与脱靶活性比率可超过 104[80];此外,通过核糖核蛋白复合物进行瞬时递送,可因编辑元件的迅速降解而有效限制脱靶编辑活性[81]。在脱靶效应的检测方面,T7 核酸内切酶 1 酶切分析与全基因组测序已成为评估其发生频率与范围的常规手段[82]。值得关注的是,近期研究[83]报道的 OMEGA-R 系统通过理性诱变实现了每代 1.4×10^6 bp 的超高靶向编辑效率,同时维持极低的脱靶水平,为高精度基因编辑提供了新工具。

8 当前局限性与争议

8.1 治疗成本与可及性障碍

基因治疗的高成本是限制其临床广泛应用的关键因素之一。以新近获批的血友病基因疗法为例,其定价高达数百万美元,高昂的费用使大多数患者难以承担[84]。即使在医疗保障体系较为完善的发达国家,该类疗法的费用也往往超出公共医保的常规覆盖范围,进一步加剧了患者的经济负担[85]。此外,基因治疗产品的生产过程复杂,需在符合药品生产质量管理规范的条件下进行,并依赖高度专业化的技术人员,这些因素均显著推高了治疗成本[69]。从全球视角来看,发展中国家患者获得基因治疗的机会更为有限,反映出全球范围内医疗资源分配不均的严峻现实[86]。

8.2 儿童患者的特殊考量

近年来,儿童血液病的基因治疗领域取得了显著进展,尤其在 SCD、β-地中海贫血等疾病的临床试验中展现出突破性潜力。例如,通过靶向转录后沉默 *BCL11A* 基因以重新激活 HbF 表达的策略,已在临床试验中证实可显著提升 HbF 水平,同时降低 HbS 表达,从而有效抑制低氧条件下的 HbS 聚合,改善患者临床结局。此外,CRISPR-Cas9 技术通过模拟遗传性持续性胎儿血红蛋白增多症基因型,成功在疾病模型中恢复 HbF 表达并逆转病理表型,为基因编辑治疗提供了新思路。这些技术不仅克服了传统药物如羟基脲的局限性(疗效差异性和副作用等),还通过单细胞分析揭示了基因治疗在红细胞抗镰变能力上的优势[87]。然而,该领域的快速发展也伴随着显著的伦理挑战。首先,基因编辑的脱靶效应和长期安全性仍需严格评估,尤其是在儿童患者中,其对生殖细胞和发育中器官的潜在风险尚未完全明确[88]。其次,基因治疗的高成本(如已获批的 Casgevy 和 Lyfgenia 疗法)可能加剧医疗资源分配不公,特别是在低收入国家,这些地区儿童血液病负担最重但治疗可及性最低。同时,基因治疗中知情同意的复杂性(如患儿父母的决策压力)和遗传数据隐私问题也亟待规范[89]。未来研究方向应聚焦推动全球多中心合作,加强伦理框架建设,包括制定儿童特异性基因治疗指南、探索成本控制方案,以及利用功能精准医学(如单细胞药敏检测)实现个体化治疗决策。儿童血液病基因治疗正处于从实验性疗法向常规治疗转化的关键阶段,其发展需兼顾科学创新与社会责任,以真正实现“治愈所有患儿”的愿景。

8.3 疗效评估标准的统一性问题

目前,基因治疗领域尚缺乏统一的疗效评估标准,导致不同临床试验结果之间的比较与合理解释面临显著挑战。各研究采用的终点指标各异,例如凝血因子活性、输血需求降低幅度、血红蛋白水平等,致使疗效数据的直接可比性受限[54]。在血友病基因治疗中,如何定义“治愈”标准仍存在争议,是仅需达到止血水平还是需要完全恢复正常凝血因子活性仍不统一[7]。对于血红蛋白病而言,HbF 的表达水平与临床症状改善之间的量化关系尚未明确建立,其临床意义的界定仍需进一步细化[16]。此外,长期疗效监测的标准和方法也尚未达成共识,这影响了基因治疗产品的长期价值评估[7]。

9 未来发展方向

9.1 通用型治疗平台的构建

在当前基因治疗的研究进程中,构建通用型治疗平台已成为一个重要发展方向。此类平台致力于整合多种治疗策略,例如将免疫检查点阻断疗法与

基因编辑技术相结合，以提升治疗的广度与深度[90]。针对单基因血液疾病，虽然体外造血干细胞基因编辑疗法展现出巨大潜力，但仍存在局限性，这促使研究者开发更通用的治疗解决方案[91]。在血红蛋白病的治疗领域，基于 CRISPR 系统衍生的碱基编辑与引物编辑技术，为实现通用型平台提供了新的可能——它们能够在造血干细胞中实现精准的单碱基修正，从而在保留基因组整体结构的同时纠正致病突变[92]。此外，外泌体作为一种天然递送载体，能够同时荷载 Cas9 蛋白与单链引导 RNA（single guide RNA，sgRNA），实现多基因编辑，为克服体内 CRISPR-Cas9 系统应用中的递送障碍开辟了新途径[93]。

9.2　体内直接编辑技术的突破

体内基因编辑治疗已逐渐确立为单基因遗传病，特别是血液系统疾病的一种新兴治疗范式[92]。该策略的核心在于构建能够直接在体内靶向造血干细胞的基因编辑系统，以期利用其自我更新与多系分化潜能，实现对血液疾病的根本性纠治[94]。近期研究[95]进展显示，经蛋白质工程改造的微型核酸酶 AsCas12f 变体，凭借其显著缩小的蛋白尺寸，为发展适于在体递送的微型化基因组编辑工具提供了新的平台可能性。相较于传统依赖于造血干细胞采集、体外基因校正及骨髓清空性预处理后再回输的复杂流程，体内直接编辑技术有望规避体外操作带来的细胞损伤、污染风险以及预处理相关的毒副作用；然而，该策略亦面临造血干细胞静息状态下转导与编辑效率受限等固有生物学挑战[96]。在血友病等模型的临床前研究[69]中，体内基因编辑已展现出诱导长期治疗性表达的潜力，但其编辑事件的不可逆性所伴随的潜在风险，仍需在转化应用中予以系统审慎的评估。

9.3　联合治疗策略的探索

联合治疗策略的构建与整合已成为遗传性血液疾病基因治疗领域的重要发展方向。其中，基因编辑技术与表观遗传调控手段的协同运用，展现出多层次干预的治疗潜力[97]。在 SCD 等血红蛋白病的治疗研究[98]中，研究重点已转向探索 CRISPR-Cas9 系统与同源定向修复、碱基编辑及引物编辑等多种基因编辑工具的整合运用，以期实现对致病突变的精准修正或通过激活 HbF 表达以缓解病理进程。随着递送系统的不断创新，诸如近红外光调控的热响应型纳米平台等新型技术，为在时空中精确控制基因编辑活性、实现协同治疗效应提供了可行路径[99]。此外，诱导多能干细胞技术与高效基因编辑方法的结合，不仅拓宽了体外疾病建模与靶点筛选的途径，也为获取经遗传修正的造血细胞来源开辟了新思路[100]。这些综合性治疗策略通过多机制互补，有望系统性地应对当前单一疗法所面临的插入突变、免疫原性及脱靶效应等关键挑战[98]。

10　总结与展望

10.1　基因治疗对遗传性血液疾病治疗范式的改变

基因治疗正在推动遗传性血液疾病的治疗模式发生根本性转型，为血友病和血红蛋白病等传统难治性疾病的根治带来了突破性契机[12]。随着病毒载体技术的持续优化及细胞制造工艺的日臻完善，基于造血干细胞的基因治疗策略已逐步从基础研究迈向临床实践[101]。这些技术进展不仅克服了传统蛋白替代疗法需终身重复给药的局限，还通过单次治疗即可实现致病基因的长期稳定表达，展现出持续性的治疗效果[14]。尤其值得关注的是，以 CRISPR-Cas9 系统为代表的基因编辑技术的引入，使直接修正致病基因变异成为现实，标志着血液疾病治疗策略从既往的症状控制向病因纠治的根本性转变[69]。

10.2　从实验室到临床转化的关键路径

尽管基因治疗在遗传性血液疾病领域取得显著进展，但其从基础研究到临床应用的转化过程仍面临诸多挑战。病毒载体技术的持续改进是提升治疗安全性与有效性的核心环节，重点包括降低插入突变风险及增强组织靶向特异性等关键问题[69]。制造工艺的标准化与规模化是推动治疗可及性的另一关键，当前个体化治疗方案所伴随的高昂成本亟待通过技术优化与流程整合予以控制[15]。此外，建立统一的疗效评估体系并完善长期随访机制，对于客观验证治疗的持久性与安全性具有至关重要的意

义[102]。值得关注的是,以 mRNA 为代表的非病毒递送技术正逐步展现出其独特优势,有望改变传统基于造血干细胞的基因治疗策略,为临床转化开辟新的技术路径[103]。

10.3 个体化精准治疗的发展前景

基因治疗正引领遗传性血液疾病迈入精准医学的新阶段。随着对疾病分子病理机制认识的深化及基因编辑工具的持续革新,针对患者个体特异基因变异谱设计定制化治疗方案已具备现实可能性[104]。未来该领域的发展将聚焦于 3 个关键方向:构建通用型治疗平台以显著降低生产成本,开发体内直接编辑技术以规避干细胞移植的复杂流程,以及探索多机制协同的联合治疗策略以提升整体疗效[105]。尤其值得注意的是,血友病基因治疗在临床转化过程中积累的成功经验,为其他单基因遗传病的治疗策略设计提供了重要范式,有望推动整个基因治疗领域的协同发展[14]。这些系统性努力的最终目标,是实现真正基于患者基因特征的个体化精准治疗,为不同临床背景的患者提供最优化的治疗选择。

参考文献

1 Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, *et al*. WFH guidelines for the management of hemophilia[J]. Haemophilia, 2020, 26: 1–158. doi: 10.1111/hae.14046.

2 Poon MC, Luke KH. Haemophilia care in China: achievements of a decade of World Federation of Hemophilia treatment centre twinning activities[J]. Haemophilia, 2008, 14(5): 879–888. doi: 10.1111/j.1365–2516.2008.01821.x.

3 Steinberg MH, Adewoye AH. Modifier genes and sickle cell anemia[J]. Curr Opin Hematol, 2006, 13(3): 131–136. doi: 10.1097/01.moh.0000219656.50291.73.

4 Rodgers GP. Overview of pathophysiology and rationale for treatment of sickle cell anemia[J]. Semin Hematol, 1997, 34(3 Suppl 3): 2–7.

5 Mousa SA, Al Momen A, Al Sayegh F, *et al*. Management of painful vaso–occlusive crisis of sickle–cell anemia: consensus opinion[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2010, 16(4): 365–376. doi: 10.1177/1076029609352661.

6 Dushimova Z, Pashimov M, Kaibullayeva J, *et al*. Therapeutic advances in hemophilia: from molecular innovation to patient–centered global care[J]. Front Med (Lausanne), 2025, 12: 1618464. doi: 10.3389/fmed.2025.1618464.

7 Marchesini E, Morfini M, Valentino L, *et al*. Recent advances in the treatment of hemophilia: a review[J]. Biologics, 2021, 15: 221–235. doi: 10.2147/BTT.S252580.

8 Sidhom D, Aboul–Hassan D, Clauw DJ, *et al*. Chronic pain management in sickle cell disease: a systematic scoping review of controlled trials[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2023, 190: 104087. doi: 10.1016/j.critrevonc.2023.104087.

9 Corbacioglu S, Frangoul H, Locatelli F, *et al*. Defining curative endpoints for transfusion–dependent β–thalassemia in the era of gene therapy and gene editing[J]. Am J Hematol, 2024, 99(3): 422–429. doi: 10.1002/ajh.27166.

10 Luo L, Zheng Q, Chen Z, *et al*. Hemophilia a patients with inhibitors: mechanistic insights and novel therapeutic implications[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1019275. doi: 10.3389/fimmu.2022.1019275.

11 Herzog RW, Kaczmarek R, High KA, *et al*. Gene therapy for hemophilia – from basic science to first approvals of "one–and–done" therapies[J]. Mol Ther, 2025, 33(5): 2015–2034. doi: 10.1016/j.ymthe.2025.03.043.

12 Thornburg CD, Pipe SW, Cantore A, *et al*. Clinical perspective: advancing hemophilia treatment through gene therapy approaches[J]. Mol Ther, 2025, 33(6): 2350–2362. doi: 10.1016/j.ymthe.2025.04.023.

13 Samelson–Jones BJ, Small JC, George LA, *et al*. Roctavian gene therapy for hemophilia A[J]. Blood Adv, 2024, 8(19): 5179–5189. doi: 10.1182/bloodadvances.2023011847.

14 Franchini M, Mannucci PM. The more recent history of hemophilia treatment[J]. Semin Thromb Hemost, 2022, 48(8): 904–910. doi: 10.1055/s–0042–1756188.

15 Ragni MV. Hemophilia as a blueprint for gene therapy[J]. Science, 2021, 374(6563): 40–41. doi: 10.1126/science.abg0856.

16 Hariharan P, Nadkarni A. Insight of fetal to adult hemoglobin switch: genetic modulators and therapeutic targets[J]. Blood Rev, 2021, 49: 100823. doi: 10.1016/j.blre.2021.100823.

17 Trappl M, Vostatek R, Salzmann M, *et al*. Hemophilia is associated with accelerated biological aging[J]. Haematologi-

ca,2025,110(9):2055-2063. doi:10.3324/haematol.2024.286421.

18 Berntorp E,Fischer K,Hart DP,*et al*. Haemophilia[J]. Nat Rev Dis Primers,2021,7(1):45. doi:10.1038/s41572-021-00278-x.

19 Dericquebourg A,Fretigny M,Chatron N,*et al*. Whole F9 gene sequencing identified deep intronic variations in genetically unresolved hemophilia B patients[J]. J Thromb Haemost,2023,21(4):828-837. doi:10.1016/j.jtha.2022.12.005.

20 Zhang H,Xin M,Lin L,*et al*. Pleiotropic effects of different exonic nucleotide changes at the same position contribute to hemophilia B phenotypic variation[J]. J Thromb Haemost,2024,22(4):975-989. doi:10.1016/j.jtha.2023.12.031.

21 Cade M,Munoz-Garcia J,Babuty A,*et al*. FVIII regulates the molecular profile of endothelial cells:functional impact on the blood barrier and macrophage behavior[J]. Cell Mol Life Sci,2022,79(3):145. doi:10.1007/s00018-022-04178-5.

22 Rees DC,Williams TN,Gladwin MT,*et al*. Sickle-cell disease[J]. Lancet,2010,376(9757):2018-2031. doi:10.1016/S0140-6736(10)61029-X.

23 Gopalsamy A,Aulabaugh AE,Barakat A,*et al*. PF-07059013:a noncovalent modulator of hemoglobin for treatment of sickle cell disease[J]. J Med Chem,2021,64(1):326-342. doi:10.1208/s12248-023-00808-3.

24 Tangsricharoen T,Natesirinilkul R,Phusua A,*et al*. Severe neonatal haemolytic anaemia caused by compound heterozygous *KLF1* mutations:report of four families and literature review[J]. Br J Haematol,2021,194(3):626-634. doi:10.1111/bjh.17616.

25 El Hoss S,Shangaris P,Brewin J,*et al*. Reduced GATA1 levels are associated with ineffective erythropoiesis in sickle cell anemia[J]. Haematologica,2025,110(5):1150-1163. doi:10.3324/haematol.2024.286010.

26 Aoyagi Y,Hayashi Y,Harada Y,*et al*. Mitochondrial fragmentation triggers ineffective hematopoiesis in myelodysplastic syndromes[J]. Cancer Discov,2022,12(1):250-269. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0032.

27 Hayashi Y,Kawabata KC,Tanaka Y,*et al*. MDS cells impair osteolineage differentiation of MSCs via extracellular vesicles to suppress normal hematopoiesis[J]. Cell Rep,2022,39(6):110805. doi:10.1016/j.celrep.2022.11080.5.

28 Meunier M,Laurin D,Park S,*et al*. Extracellular vesicles and microrna in myelodysplastic syndromes[J]. Cells,2023,12(4):658. doi:10.3390/cells12040658.

29 Kulczynska-Figurny K,Bieker JJ,Siatecka M,*et al*. Severe anemia caused by dominant mutations in Kruppel-like factor 1 (*KLF1*)[J]. Mutat Res Rev Mutat Res,2020,786:108336. doi:10.1016/j.mrrev.2020.108336.

30 Ala C,Ramalingam S,Kondapalli Venkata Gowri CS,*et al*. A critique review of fetal hemoglobin modulators through targeting epigenetic regulators for the treatment of sickle cell disease[J]. Life Sci,2025,369:123536. doi:10.1016/j.lfs.2025.123536.

31 Srivastava A,Abraham A,Aboobacker F,*et al*. Lentiviral gene therapy with $CD34^+$ hematopoietic cells for hemophilia A[J]. N Engl J Med,2025,392(5):450-457. doi:10.1056/NEJMc2502741.

32 Ku MW,Authie P,Nevo F,*et al*. Lentiviral vector induces high-quality memory T cells via dendritic cells transduction[J]. Commun Biol,2021,4(1):713. doi:10.1038/s42003-021-02251-6.

33 Tada T,Norton TD,Leibowitz R,*et al*. Directly injected lentiviral vector-based T cell vaccine protects mice against acute and chronic viral infection[J]. JCI Insight,2022,7(18):e161598. doi:10.1172/jci.insight.161598.

34 Cuker A,Kavakli K,Frenzel L,*et al*. Gene therapy with fidanacogene elaparvovec in adults with hemophilia B[J]. N Engl J Med,2024,391(12):1108-1118. doi:10.1056/NEJMoa2302982.

35 Batty P,Mo AM,Hurlbut D,*et al*. Long-term follow-up of liver-directed,adeno-associated vector-mediated gene therapy in the canine model of hemophilia A[J]. Blood,2022,140(25):2672-2683. doi:10.1182/blood.2021014735.

36 Lu Y,Ling C,Shoti J,*et al*. Enhanced transgene expression from single-stranded AAV vectors in human cells *in vitro* and in murine hepatocytes *in vivo*[J]. Mol Ther Nucleic Acids,2024,35(2):102196. doi:10.1016/j.omtn.2024.102196.

37 Ragni MV,Mead H,De Jong YP,*et al*. Optimizing liver health before and after gene therapy for hemophilia A[J]. Blood Adv,2024,8(19):5203-5212. doi:10.1182/bloodadvances.

2024013059.

38 Von Drygalski A, Gomez E, Giermasz A, *et al.* Stable and durable factor Ⅸ levels in patients with hemophilia B over 3 years after etranacogene dezaparvovec gene therapy[J]. Blood Adv, 2023, 7(19): 5671-5679. doi: 10.1182/bloodadvances.2022008886.

39 Batty P, Fong S, Franco M, *et al.* Vector integration and fate in the hemophilia dog liver multiple years after AAV-FⅧ gene transfer[J]. Blood, 2024, 143(23): 2373-2385. doi: 10.1182/blood.2023022589.

40 Nair N, De Wolf D, Nguyen PA, *et al.* Gene therapy for hemophilia B using CB 2679d-GT: a novel factor Ⅸ variant with higher potency than factor IX Padua[J]. Blood, 2021, 137(21): 2902-2906. doi: 10.1182/blood.2020006005.

41 Xu Z, Zhao L, Zhong Y, *et al.* A Novel mouse model harboring hepatitis B virus covalently closed circular DNA[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2022, 13(4): 1001-1017. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.11.011.

42 Li T, Li S, Kang Y, *et al.* Harnessing the evolving CRISPR/Cas9 for precision oncology[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 749. doi: 10.1186/s12967-024-05570-4.

43 Wilkinson AC, Dever DP, Baik R, *et al.* Cas9-AAV6 gene correction of beta-globin in autologous HSCs improves sickle cell disease erythropoiesis in mice[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 686. doi: 10.1038/s41467-021-20909-x.

44 Hardouin G, Miccio A. Two is better than one: advancing gene therapy protocols for enhanced safety and efficacy[J]. Cell Stem Cell, 2025, 32(2): 179-180. doi: 10.1016/j.stem.2024.12.009.

45 Newby GA, Yen JS, Woodard KJ, *et al.* Base editing of haematopoietic stem cells rescues sickle cell disease in mice[J]. Nature, 2021, 595(7866): 295-302. doi: 10.1038/s41586-021-03609-w.

46 Park JC, Jang HK, Kim J, *et al.* High expression of uracil DNA glycosylase determines C to T substitution in human pluripotent stem cells[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2021, 27: 175-183. doi: 10.1016/j.omtn.2021.11.023.

47 Uchida N, Li L, Nassehi T, *et al.* Preclinical evaluation for engraftment of $CD34^+$ cells gene-edited at the sickle cell disease locus in xenograft mouse and non-human primate models[J]. Cell Rep Med, 2021, 2(4): 100247. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100247.

48 Marco E, Sousa P, Janoudi T, *et al.* Nonclinical evaluation of renizgamglogene autogedtemcel for SCD and TDT[J]. Mol Ther, 2026, 34(1): 249-265. doi: 10.1016/j.ymthe.2025.09.031.

49 Gupta P, Goswami SG, Kumari G, *et al.* Development of pathophysiologically relevant models of sickle cell disease and β-thalassemia for therapeutic studies[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1794. doi: 10.1038/s41467-024-46036-x.

50 Deshpande SR, Joseph K, Tong J, *et al.* Adeno-associated virus-based gene therapy for hemophilia A and B: a systematic review and *meta*-analysis[J]. Blood Adv, 2024, 8(23): 5957-5974. doi: 10.1182/bloodadvances.2024014111.

51 Pipe SW, Leebeek FWG, Recht M, *et al.* Gene therapy with etranacogene dezaparvovec for hemophilia B[J]. N Engl J Med, 2023, 388(8): 706-718. doi: 10.1056/NEJMoa2211644.

52 Tuddenham EGD, Chowdary P, McIntosh J, *et al.* Sustained clinical benefit of AAV gene therapy in severe hemophilia B[J]. N Engl J Med, 2025, 392(22): 2226-2234. doi: 10.1056/NEJMoa2414783.

53 Xue F, Zhu T, Sun J, *et al.* Factor Ⅸ-Padua AAV gene therapy in hemophilia B: phases 1/2 and 3 trials[J]. Nat Med, 2026, 32(1): 93-102. doi: 10.1038/s41591-025-04012-y.

54 Muczynski V, Tanner L, Vayssiere C, *et al.* Alternative AAV gene therapy for hemophilia A using expression of Bi8, a novel single-chain FⅧ-mimetic antibody[J]. Blood, 2025, 146(26): 3175-3187. doi: 10.1182/blood.2024027709.

55 Kwiatkowski JL, Thompson AA, Schneiderman J, *et al.* Long-term efficacy and safety results of betibeglogene autotemcel gene therapy for transfusion-dependent β-thalassemia[J]. Blood, 2026, 147(19): 2203-2214. doi: 10.1182/blood.2025029196.

56 Hardouin G, Miccio A, Brusson M, *et al.* Gene therapy for β-thalassemia: current and future options[J]. Trends Mol Med, 2025, 31(4): 344-358. doi: 10.1016/j.molmed.2024.12.001.

57 Boulad F, Maggio A, Wang X, *et al.* Lentiviral globin gene therapy with reduced-intensity conditioning in adults with β-thalassemia: a phase 1 trial[J]. Nat Med, 2022, 28(1):

63-70. doi:10.1038/s41591-021-01554-9.

58 Far BF, Akbari M, Habibi MA, *et al.* CRISPR technology in disease management: an updated review of clinical translation and therapeutic potential[J]. Cell Prolif, 2025, 58(11): e70099. doi:10.1111/cpr.70099.

59 Ramadier S, Chalumeau A, Felix T, *et al.* Combination of lentiviral and genome editing technologies for the treatment of sickle cell disease[J]. Mol Ther, 2022, 30(1): 145-163. doi:10.1016/j.ymthe.2021.08.019.

60 Sharma A, Boelens JJ, Cancio M, *et al.* CRISPR-Cas9 editing of the HBG1 and HBG2 promoters to treat sickle cell disease[J]. N Engl J Med, 2023, 389(9): 820-832. doi: 10.1056/NEJMoa2215643.

61 Cavazzana M, Corsia A, Brusson M, *et al.* Treating sickle cell disease: gene therapy approaches[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2025, 65(1): 397-413. doi:10.1146/annurev-pharmtox-022124-022000.

62 Tripodi A, Garagiola I, Bitto N, *et al.* Gene therapy for hemophilias: opportunities and challenges for the clinical laboratory[J]. Clin Chem, 2025, 71(10): 1024-1035. doi:10.1093/clinchem/hvaf085.

63 Samelson-Jones BJ, Finn JD, Raffini LJ, *et al.* Evolutionary insights into coagulation factor Ⅸ Padua and other high-specific-activity variants[J]. Blood Adv, 2021, 5(5): 1324-1332. doi:10.1182/bloodadvances.2019000405.

64 Aprile A, Lidonnici MR, Ferrari G, *et al.* Gene therapy for hemoglobinopathies: clinical trial results and biology of hematopoietic stem cell and the bone marrow niche[J]. Cell Rep Med, 2025, 6(12): 102419. doi: 10.1016/j.xcrm.2025.102419.

65 Zeng J, Nguyen MA, Liu P, *et al.* Gene editing without *ex vivo* culture evades genotoxicity in human hematopoietic stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2025, 32(2): 191-208.e11. doi: 10.1016/j.stem.2024.11.001.

66 Drysdale CM, Nassehi T, Gamer J, *et al.* Hematopoietic-stem-cell-targeted gene-addition and gene-editing strategies for β-hemoglobinopathies[J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(2): 191-208. doi:10.1016/j.stem.2021.01.001.

67 John T, Czechowicz A. Clinical hematopoietic stem cell-based gene therapy[J]. Mol Ther, 2025, 33(6): 2663-2668. doi:10.1016/j.ymthe.2025.04.029.

68 Almotiri A, Abogosh A, Abdelfattah A, *et al.* Treating genetic blood disorders in the era of CRISPR-mediated genome editing[J]. Mol Ther, 2025, 33(6): 2645-2662. doi:10.1016/j.ymthe.2025.01.031.

69 Yudaeva A, Kostyusheva A, Kachanov A, *et al.* Clinical and translational landscape of viral gene therapies[J]. Cells, 2024, 13(22): 1916. doi:10.3390/cells13221916.

70 Ottaviano G, Qasim W. Current landscape of vector safety and genotoxicity after hematopoietic stem or immune cell gene therapy[J]. Leukemia, 2025, 39(6): 1325-1333. doi:10.1038/s41375-025-02585-8.

71 Shrestha D, Bag A, Wu R, *et al.* Genomics and epigenetics guided identification of tissue-specific genomic safe harbors[J]. Genome Biol, 2022, 23(1): 199. doi: 10.1186/s13059-022-02770-3.

72 Kimura S, Harashima H. Nano-bio interactions: exploring the biological behavior and the fate of lipid-based gene delivery systems[J]. BioDrugs, 2024, 38(2): 259-273. doi:10.1007/s40259-024-00647-4.

73 Puzzo F, Crossley MP, Goswami A, *et al.* AAV-mediated genome editing is influenced by the formation of R-loops[J]. Mol Ther, 2024, 32(12): 4256-4257. doi:10.1016/j.ymthe.2024.09.035.

74 Rapti K, Grimm D. Adeno-associated viruses (AAV) and host immunity - a race between the hare and the hedgehog[J]. Front Immunol, 2021, 12: 753467. doi:10.3389/fimmu.2021.753467.

75 Schroeder JA, Chen J, Chen Y, *et al.* Platelet-targeted hyperfunctional *FIX* gene therapy for hemophilia B mice even with preexisting anti-FⅨ immunity[J]. Blood Adv, 2021, 5(5): 1224-1228. doi: 10.1182/bloodadvances.2020004071.

76 Zhao Y, Gan L, Ke D, *et al.* Mechanisms and research advances in mRNA antibody drug-mediated passive immunotherapy[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 693. doi:10.1186/s12967-023-04553-1.

77 Byrne BJ, Flanigan KM, Matesanz SE, *et al.* Current clinical applications of AAV-mediated gene therapy[J]. Mol Ther, 2025, 33(6): 2479-2516. doi:10.1016/j.ymthe.2025.04.045.

78 Sun N, Wang C, Edwards W, *et al.* Nanoneedle-based electroporation for efficient manufacturing of human primary chimeric antigen receptor regulatory T-cells[J]. Adv Sci

(Weinh), 2025, 12(21): e2416066. doi: 10.1002/advs.202416066.

79 Klermund J, Rhiel M, Kocher T, *et al.* On- and off-target effects of paired CRISPR-Cas nickase in primary human cells[J]. Mol Ther, 2024, 32(5): 1298-1310. doi: 10.1016/j.ymthe.2024.03.006.

80 Chen L, Zhou X, Huang C, *et al.* Engineered Un1Cas12f1 with boosted gene-editing activity and expanded genomic coverage[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2025, 122(32): e2501292122. doi: 10.1073/pnas.2501292122.

81 Bloomer H, Khirallah J, Li Y, *et al.* CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein-mediated genome and epigenome editing in mammalian cells[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 181: 114087. doi: 10.1016/j.addr.2021.114087.

82 Pan X, Qu K, Yuan H, *et al.* Massively targeted evaluation of therapeutic CRISPR off-targets in cells[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 4049. doi: 10.1038/s41467-022-31543-6.

83 Liu LH, Lei W, Zhang Z, *et al.* OMEGA-guided DNA polymerases enable random mutagenesis in a tunable window[J]. Trends Biotechnol, 2025, 43(6): 1492-1509. doi: 10.1016/j.tibtech.2025.02.011.

84 Horrow C, Kesselheim AS. Confronting high costs and clinical uncertainty: innovative payment models for gene therapies[J]. Health Aff (Millwood), 2023, 42(11): 1532-1540. doi: 10.1377/hlthaff.2023.00527.

85 Baas L, Van Der Graaf R, Van Hoorn ES, *et al.* The ethics of gene therapy for hemophilia: a narrative review[J]. J Thromb Haemost, 2023, 21(3): 413-420. doi: 10.1016/j.jtha.2022.12.027.

86 Cornetta K, Bonamino M, Mahlangu J, *et al.* Gene therapy access: global challenges, opportunities, and views from Brazil, South Africa, and India[J]. Mol Ther, 2022, 30(6): 2122-2129. doi: 10.1016/j.ymthe.2022.04.002.

87 De Souza DC, Archer NM, Armant M, *et al.* Genetic reversal of the globin switch concurrently modulates both fetal and sickle hemoglobin and reduces red cell sickling[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 5850. doi: 10.1038/s41467-023-40923-5.

88 Gupta P, Goswami SG, Kumari G, *et al.* Development of pathophysiologically relevant models of sickle cell disease and β-thalassemia for therapeutic studies[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1794. doi: 10.1038/s41467-024-46036-x.

89 Goshua G, Calhoun C, Ito S, *et al.* Distributional cost-effectiveness of equity-enhancing gene therapy in sickle cell disease in the United States[J]. Ann Intern Med, 2023, 176(6): 779-787. doi: 10.7326/M22-3272.

90 Liu X, Liu X, Luo X, *et al.* Synergistic strategies for glioblastoma treatment: CRISPR-based multigene editing combined with immune checkpoint blockade[J]. J Nanobiotechnology, 2025, 23(1): 94. doi: 10.1186/s12951-025-03112-8.

91 El-Kharrag R, Berckmueller KE, Madhu R, *et al.* Efficient polymer nanoparticle-mediated delivery of gene editing reagents into human hematopoietic stem and progenitor cells[J]. Mol Ther, 2022, 30(6): 2186-2198. doi: 10.1016/j.ymthe.2022.02.026.

92 Song X, Liu J, Chen T, *et al.* Gene therapy and gene editing strategies in inherited blood disorders[J]. J Genet Genomics, 2024, 51(11): 1162-1172. doi: 10.1016/j.jgg.2024.07.004.

93 Whitley JA, Kim S, Lou L, *et al.* Encapsulating Cas9 into extracellular vesicles by protein myristoylation[J]. J Extracell Vesicles, 2022, 11(4): e12196. doi: 10.1002/jev2.12196.

94 Karimzadeh A, Kim R, Garcia V, *et al. In situ* gene editing of hematopoietic stem cells via AAV-delivered CRISPR guide RNAs[J]. Blood Adv, 2025, 9(24): 6563-6574. doi: 10.1182/bloodadvances.2025016775.

95 Hino T, Omura SN, Nakagawa R, *et al.* An AsCas12f-based compact genome-editing tool derived by deep mutational scanning and structural analysis[J]. Cell, 2023, 186(22): 4920-4935. e23. doi: 10.1016/j.cell.2023.08.031.

96 Yao J, Atasheva S, Wagner N, *et al.* Targeted, safe, and efficient gene delivery to human hematopoietic stem and progenitor cells *in vivo* using the engineered AVID adenovirus vector platform[J]. Mol Ther, 2024, 32(1): 103-123. doi: 10.1016/j.ymthe.2023.10.023.

97 Amistadi S, Fontana L, Magnoni C, *et al.* Dissecting the epigenetic regulation of the fetal hemoglobin genes to unravel a novel therapeutic approach for β-hemoglobinopathies[J]. Nucleic Acids Res, 2025, 53(13): gkaf637. doi: 10.1093/nar/gkaf637.

98 Dimitrievska M, Bansal D, Vitale M, *et al.* Revolutionising

healing:gene editing's breakthrough against sickle cell disease[J]. Blood Rev,2024,65:101185. doi:10.1016/j.blre.2024.101185.

99 Chen C,Ma Y,Du S,*et al*. Controlled CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery for sensitized photothermal therapy[J]. Small,2021,17(33):e2101155. doi:10.1002/smll.202101155.

100 Benz EJ Jr,Silberstein LE,Panepinto J,*et al*. "Treatment with curative intent":the emergence of genetic therapies for sickle cell anemia[J]. Blood,2024,143(11):967-970. doi:10.1182/blood.2023021598.

101 Ferrari S,Valeri E,Conti A,*et al*. Genetic engineering meets hematopoietic stem cell biology for next-generation gene therapy[J]. Cell Stem Cell,2023,30(5):549-570. doi:10.1016/j.stem.2023.04.014.

102 Rohde M,Huh S,D'Souza V,*et al*. Practical and statistical considerations for the long term follow-up of gene therapy trial participants[J]. Clin Pharmacol Ther,2024,115(1):139-146. doi:10.1002/cpt.3087.

103 Ferrari S, Naldini L. A step toward stem cell engineering *in vivo*[J]. Science,2023,381(6656):378-379. doi:10.1126/science.adj0997.

104 Wu T,Hu Y,Tang LV,*et al*. Gene therapy for polygenic or complex diseases[J]. Biomark Res,2024,12(1):99. doi:10.1186/s40364-024-00618-5.

105 Alhakamy NA,Curiel DT,Berkland CJ,*et al*. The era of gene therapy:from preclinical development to clinical application[J]. Drug Discov Today,2021,26(7):1602-1619. doi: 10.1016/j.drudis.2021.03.021.

(责任编辑:马妍吉)